

**Autoradiographische Untersuchungen zur Frage
des Zusammenhanges zwischen Samenblasen-
proliferation und Höhe des Testosteronspiegels
bei der männlichen weißen Ratte zum Zeitpunkt
der Pubertät und nach operativer Kastration**

von
Victor Arnold
aus
Inta/UdSSR



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546317_0080

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik

der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr. med. O. Hornstein

**Autoradiographische Untersuchungen zur Frage
des Zusammenhanges zwischen Samenblasen-
proliferation und Höhe des Testosteronspiegels
bei der männlichen weißen Ratte zum Zeitpunkt
der Pubertät und nach operativer Kastration ***

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Victor Arnold

aus

Inta/UdSSR

* Mit dankenswerter Unterstützung
der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg.



Dekan: Professor Dr.L.DEMLING

Referent: Professor Dr.O.P.HORNSTEIN

Tag der mündlichen Prüfung: 8.Oktober 1973

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
1. Allgemeiner Teil	
2. Fragestellung	
II. Material und Methode	3
1. Tiermaterial	
2. Experimenteller Teil	
3. Autoradiographisch-technischer Teil	
III. Ergebnisse	7
IV. Diskussion	14
V. Zusammenfassung	22
VI. Literaturverzeichnis	24

I) EINLEITUNG

1. Allgemeiner Teil

Samenblase und Koagulationsdrüse der erwachsenen weißen Ratte stellen eine anatomische und funktionelle Einheit dar. Beide werden von einer Bindegewebshülle eingeschlossen; das zitronensäurereiche Sekret der Samenblase und das fructosereiche Sekret der Koagulationsdrüse bilden bei der Begattung zusammen mit dem Prostatasekret den Vaginalpfropf. Das Samenblasensekret scheint eine Rolle bei der Calciumbindung des Seminalplasmas zu spielen, die für die Koagulation des Vaginalpfropfes notwendig ist (MANN, 1964).

Am 18. Embryonaltag entwickelt sich die Samenblase der Ratte durch ein kraniales Divertikel des Wolffschen Ganges (STUTZMANN, 1898; GYLLING, 1938). Bei der Geburt ist sie ein schlauchförmiges Gebilde mit gekrümmter Spitze, die von einem unverzweigten, spiralig gewundenen Gang durchzogen wird. Am 8. Tag sprossen im proximalen Teil Seitengänge aus; am 10. Tag ist die Muskulatur weitgehend typisch ausgebildet, Basalzellen sind erstmals zu erkennen, das Epithel ist überall einschichtig zylindrisch. Zwischen dem 11. und 18. Tag rückt die Ausbildung der Drüsenform in den Vordergrund. Es werden verstärkt Seitengänge und deren Verzweigungen gebildet. Um den 18. Tag reifen im proximalen Anteil die ersten Epithelzellen cytologisch aus. Die Zellen werden höher, der Zellkern wird größer, blasser, blasiger; das supranucleäre Cytoplasma wird vermehrt, über dem Kern wird eine deutliche Aufhellungszone sichtbar. Die ersten Sekretionerscheinungen treten auf, vor allem proximal im Hauptgang. Am 50. Tag nimmt das Sekret zu, am 60. Tag füllt es das ganze Lumen aus (HENNINGSEN, 1963).

Die Morphologie und die Funktion dieser akzessorischen Geschlechtsdrüsen sind hormonabhängig; ihre volle morphologische und funktionelle Ausbildung erreichen sie erst unter dem Einfluß der im heranwachsenden Organismus gebildeten Hormone (HENNINGSEN, 1963). Der Testosteronspiegel im Blut des Tieres bestimmt die Sekretionsrate, Citronensäurekonzentration und das Aussehen der Drüsenzellen (MANN, 1964).

Nach Kastration werden daher die Drüsen und die einzelnen Zellen kleiner, die Sekretion wird geringer. Durch Testosteronzufuhr ist dieser Vorgang reversibel: Die Protein-, Lipid- und Nucleinsäuresynthese, der O_2 -Verbrauch und die Aktivität zahlreicher Fermente werden wieder erhöht (MANN, 1964). Stilboestrolgaben wirken hingegen nur auf das Wachstum des subepithelialen Bindegewebes und der Muskulatur (SHEPPARD et al., 1965).

2. Fragestellung

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigten sich:

- 1.) Mit den proliferationskinetischen Voraussetzungen des Differenzierungsprozesses des Samenblasenepithels bei der heranwachsenden weißen Ratte, wobei die Wachstumsverhältnisse eines hormonabhängigen Organes um die Zeit der Pubertät interessierte.
- 2.) Mit der Änderung des Wachstumsverhaltens des Samenblasenepithels der erwachsenen weißen Ratte nach Kastration, also nach experimentellem Testosteronentzug.

II) MATERIAL UND METHODE

1. Tiermaterial

Untersucht wurden 24 männliche weiße Ratten unterschiedlichen Alters aus einer Zucht. Alle Versuchstiere wurden unter konstanten Bedingungen gehalten, d.h.: Raumtemperatur 21°C, Trockenfutter (Altromin^R), Wasser ad libitum, regelmäßiger, künstlicher Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden. Die Tiere wurden während der Versuche in einem eigenen Versuchsraum gehalten.

2. Experimenteller Teil

2.1. Es wurden folgende Versuchsgruppen gebildet:

- A) 4 Kontrolltiere, die am Untersuchungstag jeweils 180 Tage alt waren und an denen kein experimenteller Eingriff vorgenommen wurde.
- B) 10 Tiere, bei denen am Versuchstag jeweils 2 Tiere 21, 29, 40, 50 und 60 Tage alt waren.
- C) 10 Tiere, 180 Tage alt, an denen eine Vollkastration durchgeführt wurde. Es wurden jeweils 2 Tiere am 3., 7., 12., 21., und 90. Tag nach Kastration getötet. (Hierbei wurde auch das Körpergewicht am Beginn und am Ende des Experiments bestimmt).

2.2. Operative Technik

Die Tiere der Versuchsgruppe C wurden alle in kombinierter Äther-Nembutal^R-Narkose zwischen 9 und 11 Uhr vormittags durch einen senkrechten, medialen Abdominalschnitt unter sorgfältiger Berücksichtigung der Gefäßverhältnisse beidseits kastriert.

3. Autoradiographisch-technischer Teil

- 3.1a) Die Tiere der Versuchsgruppen A und C erhielten genau 1 Stunde vor der Tötung eine einmalige Injektion von je $500\text{ }\mu\text{C}$ pro $0,5\text{ ml}$ ^3H -Thymidin (SCHWARZ Bio Research) intraperitoneal appliziert. Die spezifische Aktivität dieser Substanz beträgt $6,0\text{ C/m Mol}$ (Lit. bei SCHULZE, 1968).
- b) Die Tiere der Versuchsgruppe B erhielten bei sonst gleichen Bedingungen $2,5\text{ }\mu\text{C}$ ^3H -Thymidin/g Körpergewicht.
- c) Um tageszeitliche Schwankungen der Mitosehäufigkeit weitgehend auszuschalten, wurden alle Injektionen zwischen 9 und 11 Uhr vormittags verabreicht (PILGRIM et al., 1965). Infolge des schnellen Thymidinabbaus wurde die radioaktive Versuchszeit von 1 Stunde als geeignet angesehen.
- d) Alle Tiere wurden am Versuchstag zwischen 9 und 11 Uhr, genau 1 Stunde nach Verabreichung des ^3H -Thymidins, durch Dekapitation im Ätherrausch getötet. Sofort nach der Tötung wurde das zu untersuchende Organ entnommen.

3.2. Anfertigung der Autoradiogramme

Die entnommenen Organe wurden sofort für 48 Stunden in neutralem, mit $0,5\text{ mg/ml}$ inaktivem Thymidin versetztem, $10\text{ }\%$ igem Formalin bei 4°C fixiert; das Formalin wurde mehrfach gewechselt. Die Proben wurden 24 Stunden fließend gewässert; in aufsteigender Alkoholreihe (2 Std. $70\text{ }\%$ iger, 5 Std. $80\text{ }\%$ iger, 12 Std. $96\text{ }\%$ iger und 12 Std. $100\text{ }\%$ iger Alkohol) wurde den Organen Wasser entzogen.

Nach 24 Stunden in Methylbenzoat wurden sie 40 Min. in Benzol, dann je 24 Stunden in zunächst weiches, dann hartes Paraffin gelegt.

Danach wurden 3 μ dicke Schnitte angefertigt, die nach der Entparaffinierung nochmals in eine Waschlösung aus inaktivem Thymidin eingelegt wurden; die dadurch erhaltenen Präparate wurden mit dem Stripping-Film (Kodak AR 10, Kodak Ltd. London) überzogen. Das Auflegen der Filme wurde unter konstanter Luftfeuchtigkeit und Temperatur durchgeführt, das Aufziehen erfolgte bei dunklem Rotlicht, die Abdeckung des Arbeitstisches mit schwarzem Papier sollte einer elektrostatischen Entladung vorbeugen.

Um eine deutliche Schwärzung zu erzielen, sollten ca. $10^7 - 10^9$ β -Teilchen pro cm^2 auf die Emulsion auffallen (DAWSON, FIELD and STEVENS, 1963). Daher wurden sämtliche Präparate 18 Tage im Kühlschrank bei 4°C in lichtdichten, CaSO_4 -Drierite^R gefüllten Behältern exponiert. Die verwendeten Stripping-Filme wurden mit der fertig bezogenen Lösung Kodak D 19 entwickelt. Um den Nulleffekt gering zu halten, wurde die Entwicklungszeit nur kurz gehalten (SCHULTZE, 1968). Die Autoradiogramme wurden in Essigsäure getaucht, mit Wasser abgespült, fixiert, erneut gewässert, getrocknet und dann mit Haematoxylin-Eosin gefärbt.

Beim gesamten Entwicklungsprozeß wurde auf konstante Bedingungen geachtet.

3.3. Auswertung der Autoradiogramme

Die Präparate wurden unter dem Lichtmikroskop bei 1250-facher Vergrößerung mit Ölimmersion ausgewertet. Als markierte Zellen wurden alle Zellen angesehen, bei denen mindestens 4 Silberkörner direkt über dem Zellkern lagen.

Bei den 21 und 29 Tage alten Tieren (Versuchsgruppe B) wurden 6000 Zellen ausgewertet, bei den 40 - 60 Tage alten 8000 Zellen, bei den erwachsenen Tieren (Versuchsgruppe A und C) 10 000 Zellen.

Aus der Anzahl der markierten Zellen ergab sich der ^3H -Index (= Prozentsatz markierter Zellkerne).

Um biologische Schwankungen auszugleichen wurde jeder Versuchspunkt mit 2 Tieren besetzt, der Kontrollpunkt mit 4 Tieren. Aus den sich daraus ergebenden Werten wurde der Mittelwert errechnet.

III) E R G E B N I S S E

Versuchsgruppe A (erwachsene Kontrolltiere)

Lichtmikroskopisch scheint die Drüse in voller Sekretion begriffen zu sein; das Drüsenlumen ist prall mit Sekret gefüllt. Das das Lumen auskleidende Zylinderepithel ist schmal, einreihig und wird von einer dünnen Bindegewebslage gestützt. Die Epithelleisten ragen im Hauptgang nur wenig in das Lumen hinein. Seitlich und unterhalb des ovalen, meist basal gelegenen Zellkerns mit deutlichen Nukleolen sind kleinere Granula erkennbar, oberhalb des Zellkerns befinden sich Sekretgranula, die von einem hellen Hof umgeben sind.

Die markierten Zellkerne waren, wie auch bei den anderen Versuchsgruppen gleichmäßig, wenn auch punktuell gehäuft über das aus dem proximalen Teil der Samenblase angefertigte Präparat verteilt. Der ³H-Index beträgt als Mittelwert 0,43 %.

Versuchsgruppe B (heranwachsende Ratten-pubertäre Umstellungsphase)

Bei Versuchsgruppe B hatten die Samenblasen der 21 Tage alten Tiere ein relativ enges Lumen und zahlreiche Epithelleisten, die vor allem an der Basis breit und bindegewebsreich waren; vereinzelt fand sich haufenförmiges Sekret im Lumen im Bereich der Drüsenbasis. Die eng beieinanderliegenden Epithelzellen hatten einen unterschiedlichen Grad der Ausreifung: in der Tiefe der Buchten fanden sich reife, hohe Zellen mit deutlicher supranucleärer Aufhellung und blassem, großem vesiculärem Kern; auf

den Epithelleisten war das Epithel unreif, d.h. die Zellen standen dicht, waren niedrig und hatten einen kleinen, chromatindichten, ovalen Kern. Das Bindegewebe war stark ausgeprägt, zell dicht und wurde von einem breiten Ring der jungen, glatten Muskulatur umgeben. Bei den Samenblasen der 29, 40, 50 und 60 Tage alten Tiere erfolgte eine zunehmende Vergrößerung des Lumens bis zu völliger Entfaltung bei den 60 Tage alten Tieren; bei diesen war das Lumen voll mit Sekret angefüllt. Bei den 40 Tage alten Tieren fiel erheblicher Zelldetritus im Lumen auf. Die Ausreifung der Epithelzellen erfolgte bis zum 50. Tag; danach erschien ein gleichbleibendes Bild. Die Epithelleisten und das sie stützende Bindegewebe wurden mit der Zeit so verschmälert und verkürzt, daß beim 60 Tage alten Tier das Bild einer nahezu reifen, in voller Sekretion begriffenen Samenblase entstand.

Die Bestimmung des ^3H -Index in den einzelnen Altersstufen zeigte, daß die Proliferationsrate des Samenblasenepithels mit zunehmendem Lebensalter abnimmt. Um den 40. Lebenstag wird dieser Abfall jedoch unterbrochen: der ^3H -Index steigt stark an, fällt beim 50 Tage alten Tier wieder ab und folgt dann der ursprünglichen Kurvenführung. Bei der erwachsenen Ratte erreicht der Wert des ^3H -Index die Höhe des Erhaltungswachstums (s. Tab. 2 und Abb. 1).

Versuchsgruppe C (kastrierte Tiere)

In diesem Tierkollektiv nimmt die Höhe des Samenblasenepithels nach Kastration rasch ab. Das supranucleäre Cytoplasma mit der zentralen Aufhellungszone schrumpft zu einer schmalen Zone zusammen; die Zellkerne werden kleiner und chromatindichter. Am 7. Tag p.castr. sind diese Erscheinungen besonder:

deutlich zu erkennen; zu diesem Zeitpunkt ist die gesamte Drüse kleiner, das Lumen enger. Vom 12. Tag an sind die Kerne wieder etwas größer, das Chromatin lockerer; die Verkleinerung der Gesamtdrüse nimmt jedoch weiter zu, das Lumen wird noch enger, die Epithelleisten erscheinen durch Bindegewebsverbreiterung plumper und kürzer. Ab dem 90. Tag p. castr. ist diese Bindegewebsverbreiterung am auffälligsten.

Die Proliferationsrate beträgt 3 Tage p.castr. etwa 30 % des Wertes der intakten Tiere. 7 Tage p. castr. hat der ^3H -Index seinen niedrigsten Wert, steigt danach am 12. Tag wieder an und pendelt sich dann auf ein ca. 5 mal niedrigeres Niveau als beim intakten Tier ein (s. Tab. 2 und Abb.2).

Diese proliferationskinetischen Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen.

1. Der ^3H -Index der Kontrolltiere als Mittelwert aus 4 Tieren bestimmt, ist 0,43 %.
2. Die Proliferationsrate der Samenblase nimmt bei der heranwachsenden Ratte mit zunehmendem Alter ab. Um den 40. Lebensstag wird dieser Abfall jedoch unterbrochen; hier steigt der ^3H -Index noch einmal stark an, um danach abzufallen und wieder der ursprünglichen Kurvenführung zu folgen.
3. Die Höhe des ^3H -Index kastrierter Ratten wurde über einen Zeitraum von 90 Tagen nach der Kastration verfolgt. Die Proliferationsrate der Samenblase sank vom 3. bis 7. postoperativen Tag auf den tiefsten Punkt, stieg zwischen dem 7. und dem 12. Tag wieder an und pendelte sich auf ein gleichbleibendes, niedriges Niveau ein.

Das Gewicht der kastrierten Ratte hatte den tiefsten Wert am 7. Tag erreicht und kam nach einem deutlichen Anstieg wieder auf den Normalwert. Dieser Gewichtsanstieg lief parallel zum Anstieg des ^3H -Index der Samenblase der kastrierten Ratten.

Tabelle 2: ³H-Index der Samenblase

Versuchsart	Tier Nr.	Tag p. castr.	Alter in Tagen	3 Werte des H-Indexes in %	Mittel in %
Kontrollwerte	3		180	0,76	
	28		180	0,06	0,43
	103		180	0,33	
	104		180	0,58	
jugendliche Tiere	26			6,5	
	27		21	2,2	4,35
	44			2,0	
	45		29	2,93	2,47
	46			3,75	
	47		40	8,1	5,93
	48			1,2	
	49		50	1,03	1,12
	40			0,88	
	41		60	1,1	0,99
Kastration	67		180	0,15	
	68	3	180	0,11	0,13
	61		180	0,04	
	62	7	180	0,01	0,025
	69		180	0,04	
	70	12	180	0,15	0,095
	63		180	0,1	
	64	21	180	0,06	0,08
	65		180	0,15	
	66	90	180	0,01	0,08

Die Kontroll- und Kastrationswerte wurden aus 10 000 Zellen/Tier,
die Werte der 21, 29 und 40 Tage alten Tiere aus 6000, die der
50 und 60 Tage alten Tiere aus 8000 Zellen ermittelt.

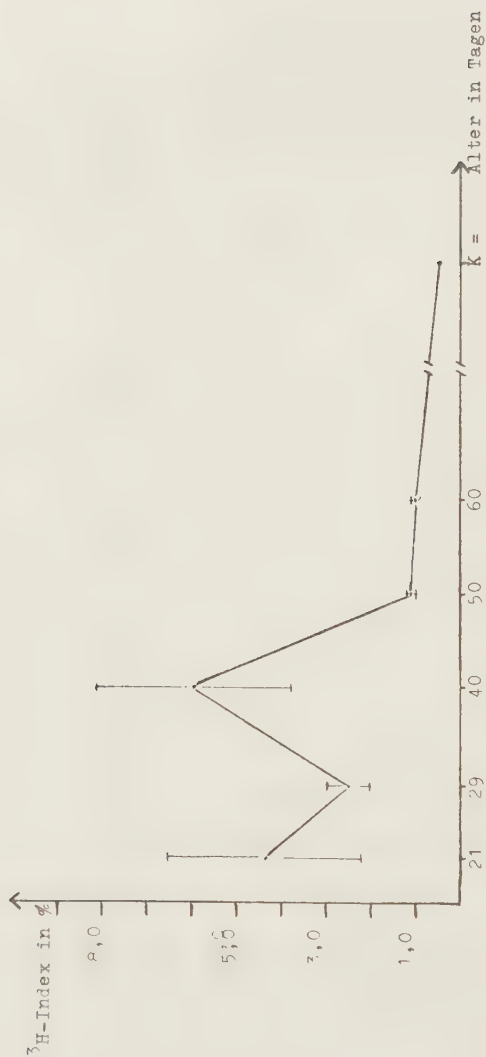


Abb. 1: Wachstumsverhalten der Samenblase der weißen Ratte zur Zeit der Pubertät.
(K = Mittelwert, an 4 erwachsenen Kontrolltieren bestimmt)

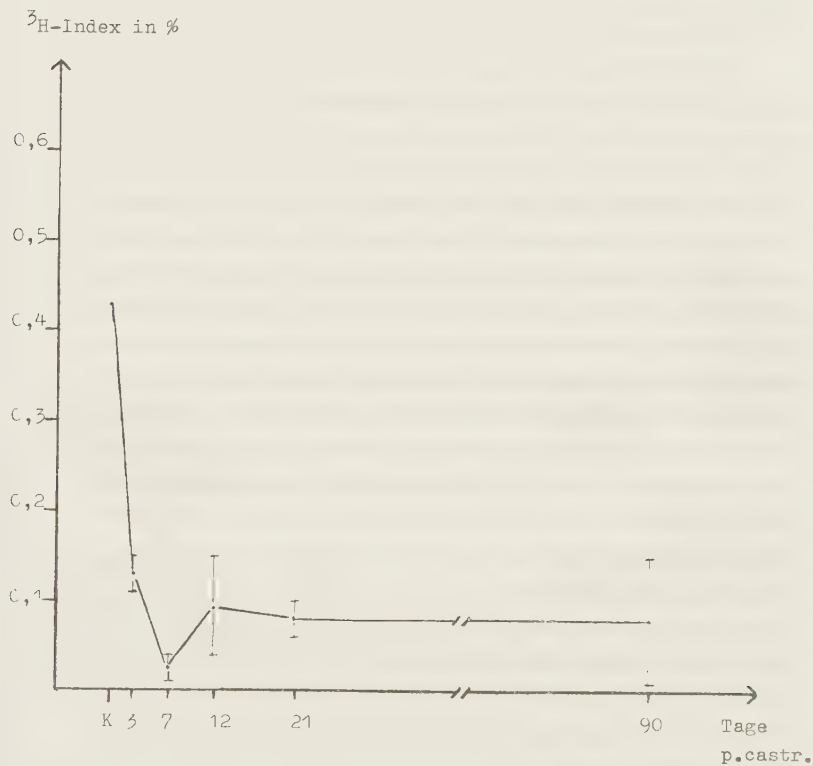


Abb 2: ^3H -Index des Samenblasenepithels der weißen erwachsenen Ratte nach Kastration; Bestimmung des Zeitpunktes der Funktionsaufnahme extragonadaler Testosteronbildner (K = Mittelwert, an 4 Kontrolltieren bestimmt).

IV) D I S K U S S I O N

Samenblasenproliferation an der erwachsenen weißen, intakten Ratte (Kontrolltier).

Bei der Auswertung der mit ^3H -Thymidin markierten Autoradiogramme der Samenblase fanden sich überall gleichmäßig verteilt - wenn auch punktuell gehäuft-markierte Hauptzellen. Dadurch wird die Ansicht von VOSS (1930) widerlegt, daß das Epithel der Samenblase sich nur aus den Basalzellen regeneriert, denn die radioaktive Versuchszeit (Zeitraum zwischen der Applikation des markierenden DNS-Vorläufers und Tötung des Versuchstieres) von 1 Std. ist zu kurz, um Basalzellen in Epithelzellen umzuwandeln. Dabei ist zu berücksichtigen, daß es im HE-Schnitt manchmal schwierig ist, Basalzellen sicher von Hauptzellen zu unterscheiden, daß Basalzellen - im Vergleich zur Häufigkeit der Hauptzellen - relativ selten sind, und daß wir nie eine sicher markierte Basalzelle gefunden haben. Unsere Untersuchungen ermöglichen es uns daher nicht, eine Aussage über die Regeneration der Basalzellen zu machen.

Der ^3H -Index von 0,43 % liegt beim gleichen Tierkollektiv im Vergleich zu anderen epithelialen Organen (Epidermis ca. 2,0 %; Wangenschleimhaut ca. 24 %) erheblich niedriger; im Vergleich zu parenchymatösen Organen (Leberparenchym 0,125 %; Cauda des Nebenhodenepithels 0,08 %) etwas höher (SCHMID u. HORNSTEIN, Therapiewoche, 1973).

Proliferationskinetische Voraussetzungen des Differenzierungsprozesses des Samenblasenepithels bei der heranwachsenden weißen Ratte (mit besonderer Berücksichtigung der Pubertätszeit).

Die Untersuchungen des Samenblasenepithels der heranwachsenden Ratte bestätigen die von HENNINGSEN (1963) zusammengestellten histologischen und cytologischen Reifungsvorgänge im Entwicklungszeitraum zwischen dem 21. und 60. Lebenstag, die zeigen, daß mit zunehmendem Alter die Zellen höher und die Zellkerne größer, blasser, blasiger werden, das supranucleäre Cytoplasma vermehrt wird, die ersten Sekretionserscheinungen zwischen dem 40. und 50. Tag auftreten und am 60. Tag das ganze Lumen ausfüllen. Ein verstärktes Wachstum der Seitengänge oder der apikalen Bereiche der Epithelleisten konnte bei eigenen Kontrolluntersuchungen nicht erkannt werden.

STÜCKER et al. (1964) stellten fest, daß die Proliferationsrate der Leberepithelien und der Epithelien der Nierentubuli bei der jugendlichen Ratte zwischen dem 1. und 4. Lebensmonat wesentlich höher ist als beim etwas älteren heranwachsenden Tier. Die Proliferationsrate fällt mit zunehmendem Alter exponentiell ab, das Vermehrungswachstum geht ab dem 4. Lebensmonat in ein Erhaltungswachstum über, so daß beim erwachsenen Organismus die gesamte Zellzahl weitgehend konstant bleibt. Da Leber und Niere in ihrer Morphologie und in ihrer Funktion vermutlich weitgehend unabhängig von den Geschlechtshormonen sind, untersuchten wir als Beispiel für ein hormonabhängiges Organ die Samenblase des heranwachsenden Tieres. Auch bei der Samenblase scheint die Proliferationsrate, d. h. der ^3H -Index, mit zunehmendem Alter exponentiell abzufallen und danach eine

Umstellung von Vermehrungswachstum zum Erhaltungswachstum stattzufinden. Auffallend ist jedoch der um den 40. Lebenstag einsetzende, erneute, starke Proliferationsschub, der sich danach dem ursprünglichen Proliferationsverlauf wieder anpaßt. Dieser Schub stimmt relativ gut mit den von PRICE (1936) erhobenen Befunden überein; die Autorin stellt ab 35. Tag eine auffällige Gewichtszunahme der Samenblase fest, die sie allerdings auf die Funktionsaufnahme des Organs bezieht. Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, daß zumindest ein Teil dieser Gewichtszunahme durch echte Proliferation der Epithelzellen bedingt ist. Dabei erhält man aus dem Schnittmaterial den Eindruck, daß zwar die ersten Sekretionszeichen im proximalen Drüsenanteil bereits um den 18. Lebenstag auftreten - wie bei HENNINGSEN (1963) beschrieben -, daß aber erst nach dem 40. Lebenstag die Sekretion massiv zunimmt, und dadurch das Drüsenlumen in der sich anschließenden Lebensphase prall mit Sekret gefüllt wird.

Nach CLEGG (1970) nimmt das Lumen der Samenblase vom 30. Lebenstag an zu, verschiebt sich zu diesem Zeitpunkt das Verhältnis von Epithel zu Bindegewebe und Muskulatur zugunsten des Epithels und nimmt das Trockengewicht von Samenblase und Koagulationsdrüse nach dem 40. Lebenstag deutlich zu. Parallel dazu registrierte CLEGG eine Zunahme der Leydig-Zellen vom 30. bis zum 80. Lebenstag. Während zwischen dem 35. und 40. Lebenstag nur einige Samenkanälchen alle Stufen der Spermiogenese aufwiesen, zeigten vom 40. bis 50. Lebenstag an alle Tubuli diese Reifezeichen (HILSCHER, 1968).

Unklar bleibt, wie es um den 40. Lebenstag zu dem von uns beobachteten Proliferationsschub im Samenblasenepithel und den von PRICE und CLEGG berichteten Reifungsvorgängen kommt. Es ist möglich, daß um den 40. Lebenstag das Samenblasenepithel für die einwirkenden Hormone stärker ansprechbar wird, daß es also zu diesem Zeitpunkt eine höhere Empfindlichkeit entwickelt. Möglich ist auch, daß zu diesem Zeitpunkt eine hormonelle Umstellung im heranwachsenden Organismus stattfindet - eine Umstellung, die der Pubertät entspräche.

Histochemisch weist STEINBERGER (1970) in den Testen der Ratten eine Änderung der Hormonproduktion um den 40. Tag nach. Während im Hoden jüngerer Tiere vorwiegend Androstendion und nur wenig Testosteron gebildet wird, ändert sich dieses Verhältnis um den 40. Tag sehr rasch zugunsten des Testosterons, der Gesamtumsatz des Progesterons bleibt dabei gleich. Diese Umschaltung könnte also den hier beschriebenen Proliferationsschub im Samenblasenepithel erklären, indem man den Anstieg des Testosteronspiegels als einen erhöhten Wachstumsreiz auf die Samenblase ansieht. Biochemisch weist KNORR (1970) einen Anstieg der Testosteronkonzentration im Plasma der Vena spermatica der Ratte um den 40. Lebenstag nach. Auch hierdurch scheint also der Proliferationsschub erklärbar zu sein.

Bei der Pubertät der männlichen Ratte kommt es also zunächst zu einer Zunahme der Zahl der Leydig-Zellen (CLEGG, 1970), die noch bis zum 80. Lebenstag anhält; ab 40. Lebenstag kommt es zu einer Umschaltung der testikulären Hormonproduktion, so daß vermehrt Testosteron gebildet wird und dieser Anstieg im Testosteronspiegel einen Wachstumsschub in der Samenblase bewirkt. Erst dann setzt die volle Sekretion ein. Am 48. Tag

erreicht die Reifungsphase ihren Höhepunkt mit der Ausreifung der ersten Spermien im Hoden (HILSCHER, 1968).

Untersuchung über die Änderung des Wachstumsverhaltens des Samenblasenepithels bei der erwachsenen weißen Ratte nach Kastration.

Ausgehend von der Tatsache, daß bei der kastrierten Ratte durch exogene Testosteronzufuhr ein Wachstumsreiz auf die Samenblase ausgeübt wird, verbunden mit einer Wiederherstellung der Morphologie, des Enzymmusters und der Funktion dieser Geschlechtsdrüse (Lit. bei MOORE, 1930; PRICE, 1936; HENNINGSSEN, 1963; MANN, 1964), wurde an 10 männlichen erwachsenen Ratten das Wachstumsverhalten nach Kastration untersucht.

Die Abnahme der Proliferationsrate erstreckte sich über mehrere Tage und erreichte am 7. Tag nach der Kastration den niedrigsten Wert. Auffallend war jedoch, daß danach der ^3H -Index wieder anstieg und vom 12. Tag an eine Höhe erreichte, die auch die danach folgenden Proliferationsraten nicht überschritten. Dieses Proliferationsniveau am 12., 21. und 90. Tag p.castr. lag erheblich über dem niedrigsten Wert am 7. Tag p. castr., war aber ungefähr 80 % niedriger als der Ausgangswert der Kontrolltiere. Der Abfall der Proliferationsrate war zu erwarten; es ist darüber hinaus bekannt, daß in der Samenblase des kastrierten Kaninchens 3 Wochen p. castr. die Fruktoseseekretion nahezu völlig aufhört (MANN, 1964). Einer Erklärung bedarf jedoch der Wiederanstieg der Proliferationsrate. STÜCKER et al. (1966) stellten fest, daß die Proliferationsrate der Nebennierenrinde der weißen erwachsenen Ratte zwischen dem

8. und 14. Tag p. castr. deutlich zunimmt. Bei dieser Proliferationszunahme bleiben zwar die Wachstumsrelationen zwischen den einzelnen Zonen der NNR nahezu gleich (starke Proliferation der Zona glomerulosa, geringste Proliferation der Zona reticularis), aber alle 3 Zonen - also auch die Zona reticularis - erfahren einen deutlichen Wachstumsschub. Wahrscheinlich entspricht diese Zellzunahme in der Nebennierenrinde einer Zunahme der funktionellen Leistung, also der Hormonproduktion.

Weiterhin ist gesichert, daß die Nebennierenrinde über ein Fermentsystem verfügt, durch das aus Acetat über Cholesterin und über die Δ^4 - oder Δ^5 - Reihe Testosteron gebildet wird (NEHRER, 1968). Möglich ist auch, daß die Leber in das experimentell veränderte System eingreift, indem sie vermehrt Testosteron aus Dehydroepiandrosteron (DHA) bildet, wobei das DHA in der NNR vermehrt gebildet wurde (NEHRER, 1968). Der gleichzeitige Proliferationsanstieg der NNR und der Samenblase - des Indikators für das gebildete Testosteron - spricht für diese Deutung.

Die zeitliche Koinzidenz des Proliferationsanstiegs in der Zona reticularis der NNR und die Zunahme der Wachstumsrate im Hypophysenvorderlappen (TIETZE et al., 1968) mit dem Proliferationsanstieg im Samenblasenepithel nach Kastration läßt auf einen hormonellen Zusammenhang, d.h. auf eine hormonelle Stimulation der rückgebildeten Samenblase schließen, zumal bekannt ist, daß die Samenblase der kastrierten Ratte schon 10 Stunden nach Applikation von Testosteron deutliche Zeichen der Regeneration zeigt (MANN, 1964).

SCHMIDT et al. (1968) fanden bei kastrierten Männern einen Testosteronspiegel im Blut, der 31 % des Normalwertes betrug. Da aber bekannt ist, daß das im Blut an Eiweiß gebundene Testosteron zu 90 - 95 % aus den Testes stammt (HUTSON et al., 1970) muß angenommen werden, daß nach der Kastration extragonadale Testosteronbildner ihre Produktion verstärken.

Diese proliferationskinetischen Untersuchungen an kastrierten weißen Ratten zeigen also, daß nach 7 Tagen der Minimal-Wert der Wachstumsrate erreicht wird, daß danach extragonadale Testosteronbildner (wahrscheinlich in der NNR) ihre Produktion verstärken und daß die kompensatorische Testosteronbildung zu einem leichten Wiederanstieg der Proliferationsrate des Samenblasenepithels führt.

Unklar bleibt jedoch dabei die Ursache der hypophysären Stimulation der NNR. Möglicherweise führt der Abfall des Testosteronspiegels im Plasma in den ersten Tagen nach der Kastration zu einem veränderten Steroid-Metabolismus in der Leber, so daß über eine verkürzte Halbwertszeit des Cortisols eine ACTH-Stimulierung erfolgt, oder es wird durch die Gonadektomie das periphere Steroidgleichgewicht gestört und die NNR beantwortet den Ausfall - als Zeichen einer vermehrten funktionellen Inanspruchnahme - mit einer gesteigerten Zellneubildung (STÜCKER et al., 1965).

Wie die Untersuchung belegt, sollte bei biologischen Modellen zur Bestimmung der Testosteronaktivität an kastrierten Ratten der Zeitpunkt der Funktionsaufnahme extragonadaler Testosteronbildner berücksichtigt werden, da sich erst danach gleichbleibende Verhältnisse herausbilden.

Unsere autoradiographischen Untersuchungen zeigen somit anhand heranwachsender und kastrierter erwachsener Tiere den Zusammenhang zwischen Samenblasenproliferation und Höhe des Testosteronspiegels bei der männlichen weißen Ratte.

v)

Z u s a m m e n f a s s u n g

Zur Frage der Hormonabhängigkeit der Wachstumsvorgänge im Samenblasenepithel wurde autoradiographisch die Proliferation des Samenblasenepithels an 10 männlichen weißen Wistar-Ratten unterschiedlichen Alters zur Zeit der Pubertät, sowie an 10 erwachsenen weißen Ratten nach Kastration geprüft; aus 4 erwachsenen, intakten Tieren wurde der Kontrollwert ermittelt.

Eine Stunde vor der Tötung erhielten die heranwachsenden Tiere (21 - 60 Tage alt) $2,5 \mu\text{C } ^3\text{H-Thymidin/g Körpergewicht i. p.}$ appliziert, die erwachsenen Tiere je $500 \mu\text{C } ^3\text{H-Thymidin}$. Die erwachsenen Tiere wurden zwischen 3. und 90. Tag v. castr. getötet. Ausgewertet wurden HE-gefärbte Autoradiogramme nach einer Expositionszeit von 18 Tagen; bestimmt wurde der Prozentsatz der markierten Zellen ($^3\text{H-Index}$) durch Zählung von 6000 - 10 000 Zellen/Tier.

Im Gegensatz zu dem bekannten, nahezu exponentiellen Abfall des $^3\text{H-Index}$ bei Leberepithelien jugendlicher Ratten kommt es beim Epithel der Samenblase um den 40. Lebenstag zu einem erneuten starken Proliferationsschub. Diese starke Wachstumstunzunahme kann als proliferationskinetischer Ausdruck der zur gleichen Zeit stattfindenden hormonellen Umschaltung in den Testes gedeutet werden. Anschließend geht das Vermehrungswachstum des jugendlichen Tieres, in ein Erhaltungswachstum über; der $^3\text{H-Index}$ des Samenblasenepithels erreicht den Wert des erwachsenen Tieres.

Bei den kastrierten Tieren sinkt der ^3H -Index bis zum 7. Tag p. castr. ab, steigt danach wieder leicht an und erreicht ein zwar gleichbleibendes, aber erheblich niedrigeres Niveau als das der erwachsenen Tiere. Literaturhinweise lassen es als möglich erscheinen, daß der Wiederanstieg der Proliferation die Funktionsaufnahme von extragonadalen Testosteronbildnern anzeigt; diese Funktionsaufnahme erfolgt bei der weißen erwachsenen Ratte zwischen dem 7. und 12. Tag p. castr.

Unsere Untersuchungen beweisen somit einen Zusammenhang zwischen der Samenblasenproliferation und der Höhe des Testosteronspiegels bei der männlichen weißen Ratte.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLISON, V.F.: Ultrastructural changes in the seminal vesicle epithelium of the rat following castration and androgen administration.
Anat. Rec. 145, 254 (1963)

2. BREUER, H., W. HOFFMANN: Wirkungsmechanismus eines Antiandrogens auf die Androgenbiosynthese.
Naturwissenschaften 54, 616 - 617 (1967)

3. BRUCHOVSKY, N., J.D.WILSON: The conversion of testosterone to 5 α -androstane-17 β -ol-3 one by rat prostate in vivo and in vitro.
J. biol.chem. 243, 2012 (1968)

4. CAVAZOS, L.E., R.M.MELAMPY: Cytological effects of testosterone propionate on epithelium of rat seminal vesicles.
Endocrinology 54, 640 - 648 (1954)

5. CHANG, L.O., W.B.LOONEY: A biological and autoradiographic study of the in vivo utilization of tritiated thymidine in regenerating rat liver.
Cancer Res. 25, 1817 - 1822 (1965)

6. CLEGG, E.J.: Growth and maturation of the seminal vesicle in the albino rat.
Morphological aspects of andrology,
Vol. 1, 153 - 157 (1970)

7. COPPAGE, W.S., A.E.COONER: Testosterone in human plasma.
New Engl.J.Med. 273, 902 (1965)

8. DAVIS, J.S., R.K.MEYER, W.H.SHAN: Effect of androgen and estrogen on succinic dehydrogenase and cytochrome oxydase of rat prostate and seminal vesicle.
Endocrinology 44, 1 - 7 (1949)
9. DAWSON, K.B., E.O.FIELD, G.W.STEVENS: Differential autoradiography of tritium and another β -emitter by a double stripping-film technique.
Nature (London) 195, 510 - 511 (1963)
10. DEANE, H.W., K.J.PORTER: Cytophysiology of seminal vesicle epithelium.
Anat. Rec. 133, 371 (1958)
11. DEANE, H.W., K.J.PORTER: Correlated histochemical and electron microscopic observations on the mouse seminal vesicle.
J. Histochem.Cytochem. 7, 315 - 316 (1959)
12. DORFMAN, R.J.: Antiandrogens.
In: Testosterone, Proceedings of the Workshop Conference held from April 20th to 22nd, 1967 at Tremsbüttel.
Thieme (Stuttgart) S. 130 - 133 (1968)
13. ENGLE, E.T.: A morphological and experimental study of the proximal lobe of the prostate of the guinea pig, cavia cobaya.
Anat. Rec. 34, 75 - 90 (1926)
14. EVENSON, A.: The effect of adrenaline on the mitotic rate in the epidermis of hairless mice.
Acta path.microbiol.scand. 61, 55 - 59 (1964)
15. FANG, S., K.M.ANDERSON, S.LIAO: Receptor proteins for androgens.
On the role of specific proteins in selective retention of 17 β -hydroxy-5 α -androstane-3one by rat ventral prostate in vivo and vitro.
J. biol. chem. 244, 6584 (1969)

16. FARISS, B.L., T.J.HURLEY, S.HANE, P.H.FORSIAM:
Reduction of testicular testosterone in rat
by ether anesthesia.
Endocrinol. 84, 940 - 942 (1969)
17. FITZGERALD, P.J., M.L.EIDINOFF, J.E.KNOLL, E.B.SIMMEL:
Tritium in autoradiography.
Science 114, 494 - 498 (1951)
18. GOOLSBY, C.M.:
Testosterone effects on glycogen deposition
in rat seminal vesicles.
Anat. Rec. 145, 321 (1963)
19. GOOLSBY, C.M.:
The localization of glycogen and alkaline
phosphatase in rat seminal vesicles.
Anat. Rec. 133, 385 (1958)
20. GRUNT, J.A., W.H.KNISELY, R.J.BERRY: In vivo observations on the seminal
vesicles of normal, castrated and hormonally
treated rats.
Anat. Rec. 124, 299 (1956)
21. GYLLING, P.:
Zur Histophysiologie der Glandula seminalis
und der Glandula vesicularis des Kaninchens.
Acta.Soc. Sci.Fenn., N5, B2, 1 - 100 (1938)
22. HENNINGSEN, B.:
Über die Entwicklung und Chemodifferenzierung
der Glandula vesiculosa und der Koagulations-
drüse der Ratte unter normalen und experimen-
tellen Bedingungen.
Z.Zellforsch. 59, 405 - 442 (1963)
23. HILSCHER, W., H.B.MAKOSKI: Histologische und autoradiographische Unter-
suchungen zur Prä spermatogenese der Ratte.
Z. Zellforsch. 86, 327 - 350 (1968)

24. HUDSON, B., H.G.BURGER, D.M. de KRESTER, I.P.COGLIAN, H.P.TAFT:
The Human Testis, Advances in experimental medicine and biology (edited by Rosenberg, E., C.A. Paulsen) 10, 423 - 436 New York: Plenum Press, 1970
25. KNORR, D.:
Testosteron und Pubertät bei Knaben.
Symp.Dtsch.Ges.Endocrin. 16, 151 - 165 (1970)
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1971
26. KROLIKOWSKA-PRASAL, J.:
Hydrolytic enzymes in the cells of the prostate gland and seminal vesicles of castrated white rats.
Z.mikr.-anat.Forsch. 75, 389 - 399 (1966)
27. KÜLPMANN, W.R., K.O.MOSEBACH: Einfluß von Testosteron auf den Einbau von Aminosäuren in die Samenblasen und Thymusproteine unreifer Ratten.
Naturwissenschaften 52, 308 (1965)
28. LEBLOND, C.P., L.F.BÉLANGER: Detection of radioactive phosphorus by the autoradiographic method in the new born mouse.
Anat. Rec. 94, 542 (1946)
29. LOWY, J., T.ALBEPART, J.R.PASQUALINI: ^3H -Corticosterone metabolism in the rat.
Acta Endocrin. 61, 483 - 493 (1969)
30. MOORE, C.R., W.HUGHS, T.F.GALLAGHER: Rat seminal vesicle cytology as a testis hormone indicator and the prevention of castration changes by testis-extract injection.
Amer.J.Anat. 45, 109 - 136 (1930)
31. NEHRER, R.:
Biosynthese des Testosterons.
In: Das Testosteron - Die Struma.
13. Symp..Dtsch. Ges. Endokrin. Würzburg
2. - 4. März 1967.
Berlin: Springer 1968

32. PILGRIM, Ch., K.J.LENNARTZ, K.WEGENER, S.HOLLWEG, W.MAURIER:
Autoradiographische Untersuchungen über
tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Index
und des Mitoseindex bei Zellarten der aus-
gewachsenen Maus, des Ratten-Fetus sowie bei
Aszites-Tumorzellen.
Z.Zellf. 68, 138 - 154 (1965)
33. PRICE, D.:
Normal development of the prostate and seminal
vesicle of the rat with a study of experimen-
tal postnatal modifications.
Amer.J.Anat. 60, 79 - 127 (1936)
34. RATHGEBER, D.:
Proliferationskinetische Untersuchungen am
Samenblasenepithel und an den Leberparenchym-
zellen der erwachsenen männlichen Ratte zur
Frage der Funktionsaufnahme extragonadaler
Testosteronbildner nach Kastration.
Med. Diss., Erlangen (1971)
35. SCHMID, G.H., V.ARNOLD:
Wachstumsverhältnisse des Samenblasenepithels
bei der heranwachsenden weißen Ratte.
Z. Zellf. 119, 378 - 383 (1971)
36. SCHMID, G.H., V.ARNOLD, O.P. HORNSTEIN: Das Wachstumsverhalten des Samen-
blasenepithels der erwachsenen weißen Ratte
nach Kastration.
Virch.Arch.Abt.B, Zellpath. 8, 361 - 364 (1971)
37. SCHMID, G.H., O.P.HORNSTEIN: Das Wachstumsverhalten der Mundschleimhaut
im Tierexperiment.
Therapiewoche 19, 1641 - 1647 (1973)
38. SCHMID, G.H., D.RATHGEBER: Einfluß des Narkoseverfahrens auf die post-
operative Samenblasenproliferation der er-
wachsenen weißen Ratte.
Virch.Arch. Abt. B, Zellpath. 11, 274 - 278 (1972)

39. SCHMIDT, H., M.APOSTOLAKIS, K.D.VOIGT: Testosteronausscheidung als Parameter der inkretorischen Hodenfunktion.
In: Das Testosteron - Die Struma.
13.Symp.Dtsch.Ges.Endokrin. Würzburg 2.-4. März 1967.
Berlin: Springer (1968)
40. SCHULTZE, B.: Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm.
In: Handb.d.allgem.Path. II/5, S.466 - 670
Berlin: Springer, 1968
41. SHEPPARD, H., W.H.TSIEN, P.MAYER, N.HOWIE: Metabolism of the accessory sex organs of the immature male rat: changes in nucleic acid composition and uptake of thymidine ³H-induced by castration and methandrostenolone.
Biochem.Pharm. 14, 41 - 51 (1965)
42. STACH, W.: Über die Nervengeflechte der Glandula vesiculosa.
Z.mikr.-anat.Forsch. 72, 278 - 299 (1965)
43. STEINBERGER, E.: Biogenesis of androgens.
Mammalian Reprod. 21. Coll. Ges.Biol.Chem. pp. 112 - 122
Berlin: Springer, 1970
44. STÖCKER, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber.
Verh.dtsch.Ges.Path. 50, 53 - 74 (1966)
45. STÖCKER, E.: Autoradiographische Untersuchungen zum zellulären Proliferationsstoffwechsel im Parenchym von Leber und Niere der Ratte.
Acta Histochem. Suppl. 8, (1968)
46. STÖCKER, E., K.KABUS, G.DOHM: Autoradiographische Studien über die DNS-Synthese in der NNR der Ratten.
Z. Zellforsch. 65, 206 - 210 (1965)

47. STÖCKER, F., K.KABUS, G.DOHM: Autoradiographische Untersuchungen über die DNS-Synthese in der Nebenniere kastrierter und thyreoidektomierter Ratten.
Z. Zellforsch. 72, 1 - 11 (1966)
48. STÖCKER, E., E.TEUBNER, G.ROSENBUSCH: Die DNS-Synthese als Funktion des Alters in Leber und Niere der Ratte.
Verh.Dtsch.Ges.Path. 48, 295 - 299 (1964)
49. STUTZMANN, J.: Die akzessorischen Geschlechtsdrüsen von Mus decumanus und ihre Entwicklungsgeschichte.
Z. Naturw. (Leipzig) 71, 257 - 294 (1898)
50. TIETZE, H.U., E.STÖCKER, G.DOHM, F.J.ROTH: Autoradiographische Untersuchungen zur DNS-Synthese und zum Proliferationsmodus im Hypophysenvorderlappen kastrierter und thyreoidektomierter Ratten.
Sdr. 14. Symp. d.Dtsch.Ges. Endokrin. pp 315-318 Springer (1968)
51. TONER, P.G., A.H.BAILLIE: Ultrastructural, biochemical and histochemical changes in the seminal vesicle after castration.
J. Anat. 99, 418 (1965)
52. TUCHIMAA, P.: Localization and metabolism of exogenous ^3H -testosterone in the male genitalia of the rat.
Fortschr. Androl. Morphological Aspects of Andrology 1, 111 - 115 (1970)
53. TVETER, K.J., A.ATTARAMANDAL: Selective uptake of radioactivity in rat ventral prostate following administration of testosterone-1, 2- ^3H . Methodological considerations.
Acta Endocrin. 59, 218 (1968)
54. VILLEE, C., T.FUJII: Effects of testosterone on RNA metabolism in prostate and seminal vesicle.
In: Tamm, Testosterone, pp. 120 - 128 Thieme (Stuttgart), 1968

55. VOSS, H.E.: Die Histo-Zytologie der Vesiculardrüsen der normalen und kastrierten Maus. (Grundlagen des "Cytologischen Regenerationstestes" auf Androkinin).
Z. Zellforsch. 11, 775 - 813 (1930)
56. WALKER, B.E., C.P.LEBLOND: Sites of nucleic acid synthesis in the mouse visualized by radiography after administration of C-14 labeled adenin and thymidine.
Exp.Cell.Res. 14, 510 - 531 (1958)
57. WESTHUES, M., R.FRITSCH: Die Narkose der Tiere.
Paul Parey-Verlag (Berlin-Hamburg) 1961
58. YATES, R.D.: Fine structural observations on untreated and ACTH treated adrenocortical cells of the zona rectularis of syrian hamsters.
Z. Zellforsch. 66, 184 - 395 (1965)

Herrn Professor Dr. med. O. P. Hornstein danke ich
für die Überlassung des Themas sowie für die Bemühungen
um die Korrektur.

Ebenso gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. med. G.H.
Schmid, der seine grundlegenden Erkenntnisse zu dieser
Arbeit zur Verfügung stellte, sowie Fräulein E. Teubner
für die technische Hilfe, die zur Durchführung der Ar-
beit erforderlich war.

Lebenslauf

Am 21. 2. 1948 wurde ich als Sohn der Margarethe Arnold, geb. Oller, in Inta (UdSSR) geboren. Im Mai 1956 trat ich in Nürnberg in die Volksschule ein, im September 1958 in die Oberrealschule in Tegernsee. Im Juli 1967 legte ich die Reifeprüfung am Martin-Behaim Gymnasium in Nürnberg ab. Im Wintersemester 1967 Beginn des Medizinstudiums an der Universität Erlangen.

Im September 1973 beendete ich das Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg mit der ärztlichen Prüfung.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990